

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

ORGANISMO NACIONAL DE SANIDAD PESQUERA Y ACUÍCOLA
COORDINACIÓN DE ENSAYOS DE APTITUD-SANIPES
PROGRAMA INTERLABORATORIO-2022
“DETECCIÓN DE VIRUS DEL SÍNDROME DE LA MANCHA BLANCA
(WSSV)”
INFORME FINAL 2022- XI

Fecha de emisión: 2023/01/26

Datos de Contacto:

Proveedor: Coordinación de Ensayos de Aptitud - SANIPES

Persona de Contacto: Coordinador General de Ensayos de Aptitud

Correo electrónico: Interlaboratorios@sanipes.gob.pe

Teléfono.: (511) 213-8570

Sitio Web:

<https://www.sanipes.gob.pe/web/index.php/es/laboratorio/tus-laboratorios/ensayos-de-aptitud>

Consulta de Alcance Acreditado:

http://consultaema.mx:75/directorio_PEA/PDFs_PEA/PEA_ENS_18.pdf

Autorizado por:

Revisado por:

Ing. Arthur Juan Meléndez Alcázar
Director
Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS)

Blgo-Mblgo Eduard Manuel Villalobos Infante
Coordinador General de Ensayos de Aptitud
Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS)

Página 1 de 14

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

DATOS DEL EQUIPO TÉCNICO:

Nombre	Formación	Cargo	Firma
Eduard Manuel Villalobos Infante	Biólogo Microbiólogo	Coordinador General de Ensayos de Aptitud	

Carlos Gene Quiróz Gutierrez	Biólogo Microbiólogo	Responsable Técnico de Ensayos de Aptitud	
------------------------------	-------------------------	---	--

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

INDICE

1.	Introducción.....	4
2.	Declaración de Confidencialidad e Imparcialidad	5
3.	Procedimiento	5
4.	Ítem de Ensayo	6
4.1	Preparación de los Ítems de Ensayo	6
4.1.1	Contenido del Ítem de Ensayo	6
4.2	Homogeneidad	6
4.3	Estabilidad.....	8
4.4	Distribución y Transporte	9
4.5	Resultados Esperados	10
5.	Análisis Estadístico	10
6.	Resultados	11
7.	Comentarios.....	13
8.	Anexos	14

1. Introducción

El Organismo Nacional de Sanidad Pesquera-SANIPES implementa, a través de la Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS), el Programa de Ensayos de Aptitud dirigidos a su Red de laboratorios participantes del sector pesquero y acuícola y laboratorios que brindan servicios de ensayos en materia de la Sanidad Acuícola, orientados al diagnóstico de las enfermedades endémicas y emergentes que afectan a los principales recursos hidrobiológicos; el cual permite evaluar los resultados en los ensayos realizados con matrices hidrobiológicas, y así demostrar su competencia técnica para generar resultados técnicamente confiables.

Los Ensayos Interlaboratorios son una herramienta técnica necesaria para implementar un sistema de monitoreo con el fin de vigilar el cumplimiento de los estándares de calidad en los ensayos que se ejecutan los laboratorios participantes, fortaleciendo el rol del SANIPES y brindando confianza a los consumidores del mercado nacional y/o extranjero, así como a las autoridades sanitarias extranjeras.

El SANIPES, en cumplimiento al programa de ensayos de aptitud 2022, organizó la prueba de Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV), dirigido a los laboratorios que brindan servicios de ensayos en el campo de la Sanidad Acuícola.

Para el desarrollo del Interlaboratorio de recuento de Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV) se empleó muestras de órganos y tejidos de “langostino” (*Penaeus vannamei*) analizadas con y sin presencia del virus WSSV. Este Interlaboratorio fue realizado en cumplimiento a los requisitos de la norma ISO/IEC 17043:2010 “Evaluación de la conformidad - Requisitos generales para los ensayos de aptitud”.

El diseño estadístico se realizó en el marco de la ISO 13528:2015 (Pruebas de Homogeneidad y Estabilidad) “Métodos estadísticos para su uso en pruebas de competencia por comparación entre laboratorios. El personal encargado del proceso, es personal calificado, el cual aseguró la imparcialidad y objetividad en la obtención de los resultados. Los Ítems de Ensayo pueden contener diversos analitos no habituales, con el fin de dar la oportunidad a los participantes de obtener una mayor experiencia.

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

Los diseños estadísticos estuvieron basados en las hipótesis, los errores, la naturaleza de datos y el número esperado de resultados. Los criterios de aceptación establecidos en la evaluación de la calidad del ensayo Interlaboratorio aseguraron que cada participante reciba ítems de ensayo comparables y estables durante el desarrollo del Interlaboratorio.

El presente informe detalla la información sobre los resultados de los laboratorios participantes, la evaluación de los datos y su desempeño en el Interlaboratorio para la “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)”, desarrollado por la Coordinación de Ensayos de Aptitud (CEA) de SANIPES en referencia de la ISO/IEC 17043:2010.

2. Declaración de Confidencialidad e Imparcialidad

Los participantes del ensayo Interlaboratorio “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)”, recibieron un código para su identificación, el cual es conocido por el Coordinador de Ensayos de Aptitud y/o de algún personal de la CEA SANIPES que el Coordinador designe, de conformidad a la política de la Coordinación de Ensayos de Aptitud – SANIPES, de mantener la confidencialidad en los resultados obtenidos, en marco del cumplimiento de la norma ISO/IEC 17043:2010.

Toda la información proporcionada por los participantes se mantiene estrictamente confidencial y no se declara a ningún otro de los participantes.

Los resultados del ensayo Interlaboratorio serán comunicados a los participantes mediante correo electrónico interlaboratorios@sanipes.gob.pe, y publicados en la página web institucional.

3. Procedimiento

La información sobre el diseño de los Ensayos de Aptitud “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)”, se encuentra detallado en el Anexo 01.

4. Ítems de Ensayo

4.1. Preparación de los Ítems de Ensayo

Los Ítems de Ensayo de estos Interlaboratorios fueron preparados por la Coordinación de Ensayos de Aptitud de SANIPES, en condiciones controladas, usando equipos calibrados y material de referencia.

4.1.1 Contenido del Ítem de Ensayo

Matriz

Se distribuyó 30 miligramos de órganos y tejido de “langostino” (*Penaeus vannamei*) en crioviales estériles con tapa rosca y usando como solución conservadora Etanol. Los crioviales fueron debidamente sellados en condiciones asépticas. Se verificó previamente a la distribución, que el mecanismo de sellado prevenga la contaminación.

4.2. Homogeneidad

De los lotes preparados se seleccionaron aleatoriamente 6 Ítems de Ensayo y se analizaron por duplicado según lo recomendado por la norma ISO 13528: 2015.

Para validar la homogeneidad del Ítem de Ensayo se realizó por duplicado el ensayo de “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)”, mediante la técnica de RT-PCR en tiempo real para determinar la presencia del genoma viral de WSSV, en una muestra de 30 miligramos, siguiendo el procedimiento LAB-PO58-M03-SANIPES (Tabla N°01 y 02).

Para el análisis de homogeneidad, se utilizó ítems de ensayos seleccionados al azar de los lotes preparados y considerados homogéneos cuando presentaron el 100 % de resultados previstos, conforme a su preparación. (Tabla N° 06: Fórmula para calcular % coincidencia).

El resultado de los análisis de homogeneidad, con su validación estadística, se presentan en las Tablas N° 01 y 02, demostrándose que los ítems de ensayo presentaron una homogeneidad apropiada para ser utilizados en la prueba Interlaboratorio.

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

Resultados de la Homogeneidad del Ítem de Ensayo

Tabla N°01. Resultados de la prueba de Homogeneidad para Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV) – M1

Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)						
N° de muestras	Lectura			Lectura duplicada		
	Ct	Detectado	No detectado	Ct	Detectado	No detectado
1	24.866	Detectado	-	24.785	Detectado	-
2	23.166	Detectado	-	22.823	Detectado	-
3	28.561	Detectado	-	28.663	Detectado	-
4	21.862	Detectado	-	21.948	Detectado	-
5	13.379	Detectado	-	13.465	Detectado	-
6	30.305	Detectado	-	30.453	Detectado	-
Control de Inhibición de PCR				Conforme		
Control negativo de extracción				Conforme		
Control de PCR negativo				Conforme		
Control de PCR positivo				Conforme		

Resultado obtenido: **100%** de las muestras **Detectadas** para Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV).

Homogeneidad: **Aprobada**

Tabla N°02. Resultados de la prueba de Homogeneidad para Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV) – M2

Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)						
N° de muestras	Lectura			Lectura duplicada		
	Ct	Detectado	No detectado	Ct	Detectado	No detectado
1	-	-	No detectado	-	-	No detectado
2	-	-	No detectado	-	-	No detectado
3	-	-	No detectado	-	-	No detectado
4	-	-	No detectado	-	-	No detectado
5	-	-	No detectado	-	-	No detectado
6	-	-	No detectado	-	-	No detectado
Control de Inhibición de PCR				Conforme		
Control negativo de extracción				Conforme		
Control de PCR negativo				Conforme		
Control de PCR positivo				Conforme		

Resultado obtenido: **100%** de las muestras **No Detectadas** para Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV).

Homogeneidad: **Aprobada**

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

4.3. Estabilidad

Los estudios de estabilidad de los Ítems de Ensayo enviados fueron desarrollados con la metodología “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)”, mediante la técnica de RT-PCR en tiempo real para determinar la presencia del genoma viral de WSSV, en una muestra de 30 miligramos, siguiendo el procedimiento LAB-PO58-M03-SANIPES, durante el periodo de ensayo establecido, a fin de asegurar que los Ítems de Ensayo preparados no sufran alteraciones, garantizando su estabilidad durante este periodo.

Para garantizar la estabilidad, se analizó 3 Ítems de Ensayo por duplicado, seleccionados aleatoriamente de los lotes preparados (ISO 13528: 2015) y se evaluó su estabilidad durante 3 períodos de tiempo diferentes (dentro del plazo de ensayo establecido).

Al respecto, se debe indicar que el lote de material se considera estable cuando el 100% de los ítems de ensayo presentan resultados previstos, según su preparación (Tabla N° 06: Fórmula para calcular % coincidencia).

Los resultados de análisis de estabilidad presentados en las Tablas N° 03 y 04, demuestran que los Ítems de Ensayo son lo suficientemente estables para el propósito de este Interlaboratorio.

Resultados de la prueba de Estabilidad del Ítem de Ensayo

Tabla N° 03. Resultados de la estabilidad para Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV) – M1

Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)						
Tiempo	Lectura			Lectura duplicada		
	Ct	Detectado	No detectado	Ct	Detectado	No detectado
2022/12/19	24.866	Detectado	-	24.785	Detectado	-
2022/12/23	14.548	Detectado	-	14.977	Detectado	-
2022/12/27	30.210	Detectado	-	30.314	Detectado	-
Control de Inhibición de PCR		Conforme				
Control negativo de extracción		Conforme				
Control de PCR negativo		Conforme				
Control de PCR positivo		Conforme				

Resultado obtenido: **100%** de las muestras **Detectadas** para Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV).
Estabilidad: **Aprobada**

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

Tabla N° 04. Resultados de la estabilidad para Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV) – M2

Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)						
Tiempo	Lectura			Lectura duplicada		
	Ct	Detectado	No detectado	Ct	Detectado	No detectado
2022/12/19	-	-	No detectado	-	-	No detectado
2022/12/23	-	-	No detectado	-	-	No detectado
2022/12/27	-	-	No detectado	-	-	No detectado
Control de Inhibición de PCR					Conforme	
Control negativo de extracción					Conforme	
Control de PCR negativo					Conforme	
Control de PCR positivo					Conforme	

Resultado obtenido: **100%** de las muestras **No Detectadas** para Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV).

Estabilidad: **Aprobada**

4.4. Distribución y Transporte

Para la “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)”, cada laboratorio participante recibió dos (02) crioviales de plástico estériles con tapa rosca conteniendo 30 miligramos de órganos y tejido de “langostino” (*Penaeus vannamei*) cada uno, usando como solución conservadora etanol e identificados con etiquetas impermeables.

Los laboratorios participantes fueron codificados según los Códigos: S-001, S-002, S-003, S-004, S-005 y S-006.

El material fue acondicionado en cajas térmicas con geles refrigerantes para mantener la temperatura hasta la llegada a los laboratorios. Los Ítems de Ensayo del presente Interlaboratorios fueron recogidos por los participantes en las instalaciones del SANIPES - Sede Callao y Tumbes, las instrucciones del Interlaboratorios y los acuerdos con los participantes fueron entregados junto con los Ítems de Ensayo para los participantes de la sede Callao y Tumbes. Para el caso de las muestras que fueron enviadas a Trujillo y Piura, estas fueron recogidas por los participantes, en la oficina de transporte señalada por SANIPES.

NOTA 1: CEA-SANIPES no se responsabilizó por la estabilidad y homogeneidad de los Ítems de Ensayo, si estos se analizan fuera del tiempo establecido en las instrucciones.

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

4.5. [] Resultados esperados

Tabla N°05. Resultados esperados

Código de los ítems de ensayo	Resultado esperado	Patógeno de Interés
M1	Detectado	Órganos y tejidos de “langostino” (<i>Penaeus vannamei</i>) + Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)
M2	No detectado	Órganos y tejidos de “langostino” (<i>Penaeus vannamei</i>)

5. Análisis Estadístico

El objetivo del tratamiento estadístico es obtener un resultado simple y transparente, de fácil comprensión para los laboratorios participantes, la evaluación cualitativa se realiza en base al reporte de falsos positivos, falsos negativos o resultados correctos.

Crterios y Evaluación del desempeño

Para el análisis estadístico de la prueba Interlaboratorio cualitativa (Presencia/Ausencia) de Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV), se calculó el porcentaje de coincidencia (Tabla N°06). Un resultado es clasificado como satisfactorio si el porcentaje de coincidencia es **igual a 100 %**; no permitiendo resultados falsos positivos o falsos negativos.

Tabla N°06. Cálculo de porcentaje de coincidencia

Resultado reportado	Resultado esperado	
	Detectado	No detectado
Detectado	Verdadero positivo (VP)	Falso Positivo (FP)
No detectado	Falso negativo (FN)	Verdadero Negativo (VN)

$$\% \text{ Coincidencia} = \frac{VN + VP}{VP + FP + FN + VN} \times 100$$

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

6. Resultados

Los resultados de los participantes fueron reportados a través del correo interlaboratorios@sanipes.gob.pe, teniendo como fecha máxima de recepción el 29 de diciembre de 2023, estos se presentan en la Tabla N° 07.

Tabla N°07. Resultados cualitativos individuales de los participantes en el Interlaboratorio Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)

Código de participante	Ítem de ensayo	Método	Resultado cualitativo esperado	Resultado del participante	Desempeño (% coincidencia)	EVALUACIÓN CUALITATIVA
S-001	M1	Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals (OIE, 2019)	Detectado	Positivo	100	Satisfactorio
	M2		No detectado	Negativo	100	
S-002	M1	Detección de WSSV Referencia: NESTED PCR (OIE-Lo et al., 1997. Primera PCR 146F1/146R. Segunda PCR 146F2/146R2). qPCR (IN HOUSE)	Detectado	Positivo	100	Satisfactorio
	M2		No detectado	Negativo	100	
S-003	M1	OIE Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos. Capítulo 2.3.8 Infección por el virus del síndrome de la mancha blanca. Part 4.3.1.2.4.3: 2019 Validado (Modificado) 2020 Método de Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV) en langostinos congelados por la técnica de PCR en tiempo real.	Detectado	Positivo	100	Satisfactorio
	M2		No detectado	Negativo	100	
S-004	M1	EXTRACCION DE ACIDOS NUCLEICOS MEDIANTE PERLAS MAGNETICAS Y PCR EN TIEMPO REAL.	Detectado	Positivo	100	Satisfactorio
	M2		No detectado	Negativo	100	

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

S-005	M1	Análisis por Nested-PCR para detección del Virus del síndrome de las manchas blancas (WSSV) en langostinos (Basado en el método descrito en el manual de las pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos 2021, de la OMSA)	Detectado	Positivo	100	Satisfactorio
	M2		No detectado	Negativo	100	
S-006	M1	REAL TIME q-PCR NESTED PCR	Detectado	Positivo	100	Satisfactorio
	M2		No detectado	Negativo		

Evaluación cualitativa Satisfactoria: 

Evaluación cualitativa No Satisfactoria: 

NOTA 2: Presencia es equivalente a Detectado y Ausencia es equivalente a No detectado

Resultado obtenido: 6/6 participantes con una coincidencia del 100% en la prueba en Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV).

Prueba de detección: 100 % Satisfactorio

Tabla N°08. Resumen de resultados

Prueba	Resultados reportados	Resultados correctos	Resultados errados	Porcentaje de coincidencia
Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)	12	12	0	100 %

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

7. Comentarios

Participaron de los Ensayos Interlaboratorios organizados por el SANIPES, 6 laboratorios en Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV).

De los resultados reportados por los laboratorios participantes, obtuvieron un rendimiento satisfactorio 6/6 (100.0%), en el Interlaboratorio para la “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)” 2022-XI.

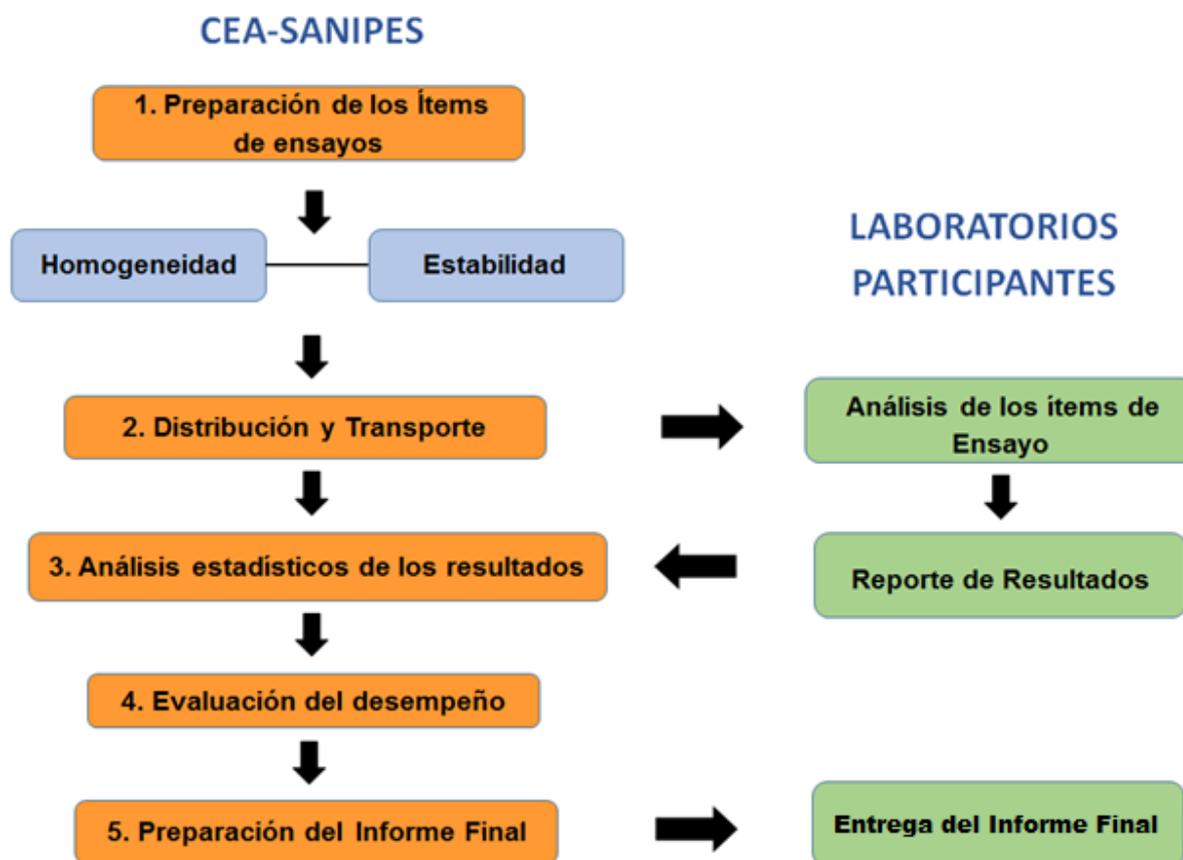
Estas pruebas Interlaboratorios para efectos de auditorías no reemplaza los ensayos de aptitud que debe realizar el participante en cumplimiento de las directrices de su ente acreditador.

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
 “Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

8. Anexos

Anexo 1

Diseño del Ensayo de Aptitud “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)”



-----Fin del documento-----